

POLIMORFISMOS GENETICOS (EN LOS GENES OPRM1, BETA-ARRESTINA2, STAT6 y COMT) Y SU INFLUENCIA EN LA TOLERANCIA AL TRATAMIENTO CON OPIACEOS MAYORES EN PACIENTES ONCOLÓGICOS.

Trabajo de Investigación. Doctorado

Departament de Medicina Interna. Universitat Autònoma de Barcelona.

Septiembre 2011.

Autora: Cristina Bugés Sánchez, licenciada en Medicina.

Director: Rafael Rosell Costa, Profesor Asociado de Medicina – Oncología Médica de la Universitat Autònoma de Barcelona y Jefe de Servicio de Oncología Médica del Hospital Germans Trias i Pujol de Badalona.

Co-director: Albert Abad Esteve, Jefe de Sección en el Servicio de Oncología Médica del Hospital Germans Trias i Pujol de Badalona.

Correspondencia: C Bugés. Servicio de Oncología Médica. Hospital Germans Trias i Pujol – ICO Badalona. C/ Canyet s/n 08916 Badalona.

cris_buges@hotmail.com

Agradecimientos: al Dr. Albert Abad Esteve y a las biólogas Eva Martínez-Balibrea, Anna Martínez Cardús, y Alba Ginés Molina por su colaboración en la realización de este estudio.

ÍNDICE

Índice	pág. 02
Certificado del director/co-director	pág. 03
Resumen	pág. 05
Resum	pág. 06
Introducción	pág. 07
- La morfina y el dolor secundario a enfermedad tumoral	
- Polimorfismos genéticos	
Pacientes y métodos	pág. 15
- Objetivo del estudio	
- Pacientes y métodos	
Resultados	pág. 18
- Características de los pacientes incluidos	
- Resultados del estudio	
Discusión	pág. 21
Conclusiones	pág. 25
Tablas y figuras	pág. 26
Referencias	pág. 39

CERTIFICADO DEL DIRECTOR

Rafael Rosell Costa, Profesor asociado del Departament de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona, y Jefe de Servicio de Oncología Médica del Hospital Germans Trias i Pujol,

FA CONSTAR,

que el treball titulat “Polimorfismos genéticos en los genes Oprm-1, beta-arrestina2, STAT6 y COMT, y su influencia en la tolerancia al tratamiento con opiáceos mayores en pacientes oncológicos” ha estat realitzat sota la meva direcció, en col·laboració amb el Dr. Albert Abad Esteve, per la llicenciada Cristina Bugés Sánchez, trobant-se en condicions de poder ser presentat com a treball d’investigació de 12 crèdits, dins el programa de doctorat en Medicina Interna (curs 2010-2011), a la convocatòria de setembre.

Barcelona, 29 d’ agost de 2011.

CERTIFICADO DEL CO-DIRECTOR

Albert Abad Esteve, Jefe de Sección del Servicio de Oncología Médica del Hospital Germans Trias i Pujol,

FA CONSTAR,

que el treball titulat “Polimorfismos genéticos en los genes Oprm-1, beta-arrestina2, STAT6 y COMT, y su influencia en la tolerancia al tratamiento con opiáceos mayores en pacientes oncológicos” ha estat realitzat sota la meva direcció, en col·laboració amb el Dr. Rafael Rosell Costa, per la llicenciada Cristina Bugés Sánchez, trobant-se en condicions de poder ser presentat com a treball d’investigació de 12 crèdits, dins el programa de doctorat en Medicina Interna (curs 2010-2011), a la convocatòria de setembre.

Barcelona, 29 d’ agost de 2011.

RESUMEN

La morfina es el opioide mayoritariamente utilizado en dolor oncológico, pero existe elevada variabilidad de respuesta. Intentamos correlacionar dicha variabilidad con polimorfismos genéticos (Oprm-1, Beta-arrestina2, Stat6 y COMT, relacionados con los mecanismos de acción de los opiáceos). Estudiamos 29 pacientes con dolor (EVA ≥ 6) que iniciaron tratamiento con morfina y evaluamos eficacia y tolerancia a la morfina correlacionándolo con los polimorfismos que presentaban. Observamos que los genotipos CC/TC para β -arrestina2 y AA/GA para COMT y Oprm1 se podrían asociar a mejor respuesta y menor toxicidad a la morfina, y los genotipos AA/GA para STAT6 se asociaban significativamente a menor toxicidad.

Palabras clave: Morfina, opioide, dolor oncológico, escala visual analógica (EVA), polimorfismos genéticos, genotipos.

RESUM

La morfina es l'opioïd majoritàriament utilitzat en dolor oncològic, però existeix elevada variabilitat de resposta. Vam intentar correlacionar aquesta variabilitat amb polimorfismes genètics (Oprm-1, Beta-arrestina2, Stat6 i COMT, relacionats amb mecanismes d'acció opioïds). Hem estudiat 29 pacients amb dolor (EVA \geq 6) que van iniciar tractament amb morfina i vam avaluar eficàcia i tolerància a la morfina correlacionant-ho amb els polimorfismos que presentaven. Vam observar que els genotips CC/TC per β -arrestina2 i AA/GA per COMT i Oprm1 es podrien associar a millor resposta i menor toxicitat a la morfina, i els genotips AA/GA per STAT6 s'associaven significativament a menor toxicitat.

Paraules clau: Morfina, opioïd, dolor oncològic, escala visual analògica (EVA), polimorfismes genètics, genotips.

INTRODUCCIÓN

1. LA MORFINA Y EL DOLOR SECUNDARIO A ENFERMEDAD TUMORAL

1.1 Dolor secundario a enfermedad tumoral

El dolor oncológico es el dolor que está producido por una enfermedad tumoral, que habitualmente, suele estar en un estadio avanzado.

Para realizar un tratamiento efectivo para este tipo de dolor, es necesario una correcta clasificación y localización del mismo mediante una buena historia clínica, exploración física y, en algunos casos, exploraciones complementarias.

Existen diferentes tipos de dolor, desde el punto de vista fisiopatológico:

- **Dolor somático** → Producido por lesión de piel, pleura, peritoneo, músculo, periostio o hueso. Es un dolor continuo, y está localizado en el lugar afectado.
- **Dolor visceral** → Producido por lesión de víscera (hueca o sólida). Es un dolor constante, que puede ser cólico, mal localizado e irradiado.
- **Dolor neuropático** → Producido por lesión del sistema nervioso central o periférico. Es un dolor urente, con sensación de escozor o calambre, continuo o lancinante. Asociado frecuentemente a cambios sensoriales (disestesias...), motores y autonómicos. El control analgésico suele ser difícil.

La intensidad del dolor puede ser medida con diferentes escalas, las más utilizadas son las siguientes:

- **Escala numérica verbal (ENV)** → En la que cero significa que el paciente no tiene dolor y diez el peor dolor imaginable. De este modo, el paciente asignará un valor determinado a su dolor.
- **Escala visual analógica (EVA) (figura 1)** → Es una línea de 10 cm de longitud, uno de los extremos (valor cero) equivale a no tener dolor y el otro

(valor 10) al peor dolor imaginable. El paciente marcará el punto en el que se encuentra su dolor. El dolor es leve de 0 a 3, moderado de 4 a 6 e intenso de 7 a 10.

En función de las características y de la intensidad del dolor, se inicia tratamiento con un analgésico de menor o mayor potencia generalmente siguiendo la escalera de dolor de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Por ejemplo, un paciente con dolor intenso requiere de un tratamiento con opioides potentes (*Figura 2 y Tabla 1*).

La vía de administración de los analgésicos ha de ser la que mejor se adapte a las necesidades del paciente, aunque siempre que sea posible es preferible la vía oral (pero por ejemplo, en pacientes que presentan disfagia, esta vía no es posible, por lo que se ha de escoger otra vía de administración). Las agudizaciones del dolor serán tratadas con dosis suplementarias de analgésicos.

1.2 La morfina

La morfina es un alcaloide fenantreno del opio. Es convertida a sulfato por neutralización con ácido sulfúrico.

Es un agonista opioide utilizado especialmente como anestesia, analgesia, tratamiento del dolor asociado a la isquemia miocárdica y para la disnea asociada al fracaso ventricular izquierdo agudo y edema pulmonar, entre otros.

Es el opioide mayoritariamente utilizado en el tratamiento analgésico en pacientes con cáncer avanzado con dolor de moderado a intenso, por su elevada eficacia en este tipo de dolor, pero existe una elevada variabilidad de respuesta entre individuos.

No es conocida la causa de esta variabilidad, pero sí es cierto que ésta, provoca diferencias significativas en las dosis requeridas y en los efectos secundarios. A pesar de

que la mayoría de estudios no confirman datos significativos, recientemente se ha podido atribuir esta variabilidad de respuesta a mecanismos genéticos.

El mecanismo de acción de la morfina (y otros opioides) tampoco es conocido completamente, pero si se conoce que es un potente agonista de los receptores μ (mu).

Existen 3 tipos de receptores opioides, los μ (mu), δ (delta) y κ (kappa), que se encuentran a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC), Sistema Nervioso Periférico (SNP) y otros tejidos. A nivel del Sistema Nervioso, se localizan tanto en el encéfalo, como en la médula espinal, como en la periferia, y se encuentran a nivel pre-sináptico y post-sináptico. Son receptores de membrana acoplados a proteínas G, que interaccionan además, con canales iónicos. La morfina y el resto de opioides presentan mayor afinidad por el receptor μ .

Los opioides imitan la acción de las endorfinas (opioide endógenos, como Met encefalina, la Leu encefalina y la Beta endorfina), ocupando su lugar en el receptor, produciendo una inhibición de la actividad de la adenilciclase. Esto se manifiesta por una hiperpolarización neuronal con supresión de la descarga espontánea y respuestas evocadas. Los opioides también interfieren en el transporte transmembrana de iones (especialmente de calcio, y también de potasio) y actúa en la membrana pre-sináptica interfiriendo con la liberación del neurotransmisor, entre otros, el neurotransmisor GABA (ácido gamma aminobutírico), por ejemplo, de forma que éste no llega a la neurona post-sináptica, y no se transmite la señal/estímulo del dolor, inhibiendo, por lo tanto, la sensación de dolor (*figura 3*).

La morfina de acción rápida tiene una duración de 3-4 horas, y la de acción retardada tiene una duración de 12 horas. El inicio de la acción de la morfina es a la hora o dos horas después de la administración y el pico a las 4 horas. No tiene techo analgésico. Siempre que sea posible se utilizará por vía oral, porque es igual de eficaz que otras

vías, aunque la biodisponibilidad de la morfina oral varía ampliamente entre los pacientes. Atraviesa la barrera hemato-encefálica (BHE) y placentaria.

Es metabolizada primariamente por conjugación con el ácido glucurónico en el hígado, y otros lugares, especialmente en riñones, mediante la enzima UGT2B7 y de esta forma se consiguen las formas conjugadas, la morfina-3-glucuronido (M3G) y la morfina-6-glucuronido (M6G). El 5-10% de la morfina que es metabolizada se transforma en M6G, que es el metabolito activo que produce la analgesia. La M3G y normorfina, son el resto de metabolitos en los que se transforma la morfina. La M3G es mayoritario en sangre, pero no tiene efecto analgésico alguno, llegando a ser hiperalgésico si sus concentraciones se encuentran en exceso.

Dado que la eliminación de dichos metabolitos es vía renal, en pacientes con insuficiencia o fallo renal se puede acumular, y provocar aumento de los efectos adversos. La vida media de eliminación de la M6G es de 114 minutos y de 173 minutos para la M3G.

Existe una amplia variabilidad interindividual, debida a factores genéticos, edad, comorbilidad e interacciones con otros medicamentos, en cuanto a la toxicidad que puede provocar. Las toxicidades más frecuentes son:

- **Toxicidad Gastrointestinal** → Es la más frecuente. Habitualmente provoca náuseas, vómitos y estreñimiento, que, habitualmente, requiere de tratamiento sintomático.

- Estreñimiento:

1. Al inicio es mejor utilizar laxantes de acción osmótica (polietilenglicol, lactilol, lactulosa) y si persiste son útiles los laxantes estimulantes (bisacodilo).
2. En el caso de pacientes con enfermedad avanzada que no responden a los laxantes habituales pueden ser tratados

con bromuro de metilnaltrexona subcutánea, ya que de esta forma se inhibe la acción de la morfina a nivel intestinal.

- Nauseas y vómitos: En primer lugar hay que descartar la existencia de impactación fecal. Una vez se ha descartado:

1. Si los vómitos son postprandiales están indicados los antieméticos procinéticos (domperidona, metoclopramida).

2. Si los vómitos ocurren con el movimiento el mejor tratamiento es la cinarizina.

3. Si los tratamientos anteriores no han sido efectivos, pueden ser útiles el haloperidol, los corticoides o los antagonistas de la serotonina (ondansetrón).

- **Neurotoxicidad** → Se diagnostica cuando se observa fallo cognitivo, tendencia a la somnolencia o mioclonías, entre otros. No es muy frecuente pero puede ser muy grave. Para revertirla, además de dejar de administrar morfina, en el caso de:

- Depresión Respiratoria: es útil administrar Naloxona.
- Fallo cognitivo: son útiles los psicoestimulantes y neurolépticos
- Mioclonías: es útil administrar Clonazepam.

- **Otras toxicidades frecuentes** → Por el efecto colinérgico que presenta la morfina, suele producir xerostomía, inhibición de la tos, sudoración... Si estos efectos secundarios requieren de tratamiento porque no son tolerables, son útiles los corticoides o los anticolinérgicos.

En el caso de que hubiera intoxicación por morfina, la clínica más evidente sería depresión respiratoria, miosis y acciones vasculares (vasodilatación, bradicardia, hipotensión).

El cambio de opioide se planteará si los efectos secundarios son intolerables, no se obtiene el efecto deseado (no eficacia en mejoría del dolor), o cuando exista intolerancia a la vía oral. Al realizar el cambio de un opioide por otro se debe evaluar regularmente la eficacia y efectos secundarios del nuevo opioide, y utilizar dosis equianalgésicas, en función de eficacia y toxicidad.

Los analgésicos opiáceos se clasifican en función de su actividad.

- **Agonistas puros** → Actúan como agonistas de los receptores. El más significativo es la morfina. Otros son la codeína, la heroína, la metadona, la meperidina y el fentalino.
- **Agonistas parciales** → Tienen afinidad por un receptor, pero su acción intrínseca es menor que la morfina. Es la buprenorfina.
- **Agonistas - antagonistas mixtos** → Bloquean receptores μ (es decir, tienen acción antagonista) y son agonistas de receptores κ . Formado por la pentazocina.
- **Antagonistas puros** → Bloquean todos los receptores. Lo constituyen la naloxona y la naltrexona.

2. POLIMORFISMOS GENÉTICOS

Un polimorfismo genético es una variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre los individuos de una población.

Aquellos polimorfismos que afectan a la secuencia codificante o reguladora y que producen cambios importantes en la estructura de la proteína o en el mecanismo de regulación de la expresión, pueden traducirse en diferentes fenotipos (por ejemplo, el color de los ojos o de la piel).

Un polimorfismo puede consistir en la sustitución de una base nitrogenada, por ejemplo, la sustitución de una A (adenina) por una C (citosina) o puede ser más complicado, por ejemplo, la repetición de una secuencia determinada de ADN, donde un porcentaje de individuos tenga un determinado número de copias de una determinada secuencia.

Los cambios poco frecuentes en la secuencia de bases en el ADN no se llaman polimorfismos, sino mutaciones y alteran la función de la proteína para la que codifican. Para que verdaderamente pueda considerarse un polimorfismo, la variación debe aparecer al menos en el 1% de la población.

Existen muchos polimorfismos que pueden estar relacionados con la eficacia y tolerancia a la morfina.

En nuestro estudio hemos escogido 4 de ellos que pueden ser importantes para intentar entender la variabilidad de respuesta que existe entre individuos.

Estos 4 polimorfismos genéticos son los siguientes:

- **Oprm-1** ➔ Es el gen que codifica para el receptor μ . A pesar de que es un gen altamente polimórfico, la gran mayoría de trabajos se han centrado en el estudio de un único polimorfismo: **A118G**. Este cambio de base de A>G en la posición 118 en el exón 1 se traduce en un cambio aminoacídico, que en todos los estudios hasta el momento, relacionan esta alteración a una disminución de la afinidad de la unión del metabolito de la morfina hacia el receptor μ -opioide provocando una diferencia en la eficacia y tolerancia/toxicidad de los opioides.
- **B-arrestina2** ➔ Es una proteína intracelular implicada en varios puntos de la regulación del receptor μ -opioide, como son el control de la fosforilación del receptor y su desensibilización e internalización. El gen que la codifica es el *arrb2*. El polimorfismo más estudiado es: **C8622T**, localizado en el exón 11, en el que se observa un cambio de C>T en la posición 8622 sin provocar un cambio de aminoácido.

- **STAT6** ➔ Es un factor de transcripción implicado en la regulación de la expresión del gen *Oprm-1*. A pesar de ser altamente polimórfico, la mayoría de sus polimorfismos se encuentran en intrones y regiones no codificantes. Pero se ha encontrado un polimorfismo, el **C9065T** en la posición 9065 C/T en el intrón 16 para el gen *stat6* que podría provocar un cambio en la regulación del gen *Oprm-1* (hay estudios que informan de aumento en la regulación, provocando aumento en la expresión del receptor μ -opioide, y hay otros estudios que informan de lo contrario, disminución de su regulación).
- **COMT** ➔ La catecol-O-metiltransferasa (COMT) es una enzima que inactiva la dopamina, adrenalina y noradrenalina en el SNC, y tiene acción moduladora de los neurotransmisores a nivel cerebral. El polimorfismo **Val158Met** provoca cambios importantes en la actividad de COMT. Los pacientes portadores del genotipo Val/Val tienen una percepción mayor del dolor y requieren mayores dosis de morfina que los homocigotos Met/Met, lo que hace hipotetizar que el polimorfismo Val158Met podría influir en la sensibilidad a la morfina, por lo que a pesar de tener una acción indirecta sobre las vías nociceptivas, puede tener un papel importante.

PACIENTES Y MÉTODOS

Objetivo del estudio:

La respuesta al tratamiento con morfina en pacientes oncológicos, es de un 60% aproximadamente. Esta cifra indica, que casi la mitad de los pacientes tratados con morfina no responden como es esperable al tratamiento o muestran mala tolerancia, por lo que es de gran interés encontrar marcadores de respuesta y/o toxicidad al tratamiento con morfina.

Nuestro objetivo en este estudio es encontrar una base genética a la variabilidad de respuesta a la morfina, y de esta forma conseguir un tratamiento individualizado, intentando maximizar su eficacia y reducir su toxicidad.

Pacientes y métodos:

Entre julio del 2009 y marzo del 2011, en el Hospital Germans Trias i Pujol, de Badalona, seleccionamos a 29 pacientes que tenían una enfermedad tumoral en un estadio avanzado (confirmada histológicamente, sin puntualizar sobre el origen del tumor primario), que les ocasionaba un dolor secundario (de tipo somático, visceral, neuropático o mixto) de elevada intensidad, que hasta el momento no estaba controlado, y que cumplieran los siguientes **criterios de inclusión:**

- Consentimiento informado
- Edad igual o superior a 18 años
- Diagnóstico histológico de Cáncer
- Dolor directamente relacionado con la enfermedad neoplásica (a criterio del médico responsable)
- Intensidad del dolor de moderado a intenso (escala EVA igual o superior a 6)
- Ausencia de tratamiento previo con morfina u otro opioide mayor

- Ausencia de efectos secundarios por el uso de un opioide menor al entrar en el estudio
- No estar en situación de agonía o de últimos días

Los criterios de exclusión, eran no cumplir con alguno de los criterios de inclusión.

El protocolo del estudio, en primer lugar, consistía en realizar una selección de los pacientes que podrían cumplir con los criterios de inclusión, y firmar el consentimiento informado. El mismo día de la inclusión, se realizaba una extracción sanguínea para el análisis de los polimorfismos con extracción del ADN genómico de cada paciente, y se iniciaba el tratamiento con Sulfato de Morfina, a dosis de 5-10 mg cada 12 horas, en función de la intensidad de dolor de cada paciente. Posteriormente, a las 72 horas de inicio de dicho tratamiento, reevaluábamos al paciente para valorar eficacia y toxicidad. En el caso de fallo (por mala tolerancia o por no eficacia), se realizaba cambio de tratamiento; si era por no eficacia se procedía en primer lugar a aumento de la dosis, y si el paciente presentaba efectos secundarios intolerables o intoxicación, se procedía a rotación del opioide, a criterio del médico/investigador.

Para evaluar la eficacia, siempre utilizamos la escala EVA, considerando éxito de tratamiento si el valor de la escala EVA disminuía hasta ser de 3 o menor (para la inclusión se requería que presentaran una escala EVA igual o superior a 6). Por lo que clasificamos a los pacientes en 2 grupos:

- Respondedores → EVA igual o inferior a 3.
- No respondedores → EVA superior a 3.

Para evaluar la toxicidad, la clasificamos en 3 grupos, en función de los efectos secundarios más frecuentes:

- Toxicidad Leve → Incluye náuseas y vómitos (que responden a tratamiento antiemético), xerostomía, sequedad cutánea, y estreñimiento.

- Toxicidad Grave ➔ Incluye náuseas y vómitos incoercibles, y neurotoxicidad (habitualmente en forma de somnolencia).
- No Toxicidad.

Estudiamos a 100 controles sanos para la caracterización de nuestra población y poder comparar la frecuencia de los polimorfismos en ellos y en nuestros pacientes (n = 29). Observamos que no había diferencias significativas entre ambos grupos (*tabla 2*).

Se estudiaron los polimorfismos en los genes Opmr-1, stat6, arrb2 y COMT mediante técnicas de discriminación alélica y secuenciación automática.

La relación entre los datos clínicos (respuesta y toxicidad) y los distintos genotipos se analizó según los modelos de dominancia y codominancia utilizando los tests de Chi-cuadrado y Fisher.

El análisis estadístico se realizó con el paquete SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versión 17.0 para Windows.

RESULTADOS

Características de los pacientes incluidos (*figura 4*):

Después de realizar la recogida de datos, el estudio de las muestras, la valoración clínica de los pacientes (en cuanto a eficacia y tolerancia) y el análisis estadístico, observamos que de los 29 pacientes que fueron incluidos en el estudio, el 41% tenían un cáncer de pulmón o pleural estadio IV. El resto de los pacientes estaban diagnosticados en un 35% de un cáncer de origen digestivo (páncreas, colon, recto y gástrico especialmente) y un 24% presentaban otros tipos de tumores (endometrio, renal, vejiga y de partes blandas). Respecto a la edad, un 65.5% de ellos tenían entre 50 y 69 años. El 27.6% tenían 70 años o más, y el 6.9% restante, tenían 49 años o menos.

Respecto al sexo, predominaron los hombres, en un 62.1%, y el 37.9% restante, eran mujeres. Los 29 pacientes pertenecían a la raza caucásica.

Resultados:

De los 29 pacientes incluidos, observamos que 12 de ellos (es decir, el 41.4%) respondieron, mostrando un EVA igual o inferior a 3 después de iniciar el tratamiento con morfina (*tabla 3*).

En cuanto a la toxicidad se observó que 24 de ellos (el 82.8%) presentaron efectos secundarios leves, 3 de ellos (el 10.3%) no presentaron efectos secundarios y 2 de ellos (el 6.9%) presentaron efectos graves (*tabla 3*).

Respecto a los pacientes que respondieron, objetivamos una tendencia a tener menos efectos secundarios y, por lo tanto, una mejor tolerancia a la morfina que los no respondedores (con una $p = 0.055$) dado que el 75% de ellos tuvieron efectos secundarios leves y el 25% no tuvieron efectos secundarios (ninguno de ellos presentó efectos secundarios graves) mientras que en el grupo de los no respondedores, todos

presentaron efectos secundarios; un 11.8% presentaron efectos graves, y el resto (el 88.2%) efectos secundarios leves (*tabla 3*).

Si nos centramos en los resultados obtenidos de la relación entre la eficacia y la tolerancia a la morfina con cada uno de los polimorfismos, observamos que:

- Respecto a la **Beta-arrestina2**, de todas las respuestas objetivadas, el 75% presentaban genotipo CC y TC, y el 25% presentaban el genotipo TT. Además, pudimos objetivar que existía una tendencia o probable asociación con los genotipos CC y TC de Beta-arrestina2 con una mejor respuesta (de todos los pacientes que presentaban genotipos CC y TC, el 52,9% de los pacientes, respondieron) frente al genotipo TT (que solo el 25% de todos ellos mostraron respuestas), con una $p = 0,13$ (*tabla 4*). Los dos pacientes que presentaron efectos secundarios graves pertenecían al genotipo CC y TC de Beta-arrestina2. El 66,7% de los pacientes que no tuvieron efectos secundarios presentaba genotipo CC ó TC ($p = ns$).
- Respecto a las variantes en el gen **COMT**, el 83.3% de los pacientes que respondieron y el 100% de los que no presentaron ningún efecto secundario presentaban genotipo AA ó GA (posible asociación, ya que fueron resultados no significativos, $p = 0,13$ y $p = 0,39$, respectivamente) (*tablas 5 y 6*). De los pacientes que presentaban genotipo AA ó GA, únicamente el 5.3% tuvieron efectos secundarios graves (el 94.7% restante, no tuvieron efectos o estos fueron leves, $p = 0.39$).
- Por otro lado, para el gen **Oprm1**, ninguno de los pacientes que respondieron a la morfina tenía genotipo GG (el 100% de ellos presentaban genotipo AA ó GA, $p = 0,25$) (*tabla 7*). Además, todos los pacientes de este grupo presentaron algún tipo de toxicidad, leve o grave (ya que ningún paciente tuvo “no toxicidad”) mientras que en el grupo de pacientes con genotipo GA ó AA el porcentaje de

pacientes sin toxicidad fue de un 11,5% (el resto de pacientes mostraron, en un 84.6% toxicidad leve, y solo un 3.8%, mostraron toxicidad grave) con una $p = 0,15$ (*tabla 8*).

- Por último, respecto al gen **STAT6**, no se observó ninguna relación entre los genotipos para este polimorfismo y la respuesta a la morfina, pero sí se evidenció, con resultados estadísticamente significativos (*tabla 9*), que de todos los pacientes que no presentaron toxicidad de ningún tipo o presentaron toxicidad leve, el 66.7% y el 95.8%, respectivamente, presentaban genotipo AA ó GA ($p = 0.048$), observando que de todos los pacientes que presentaban el genotipo AA ó GA, la mayoría presentaban toxicidad leve o no toxicidad, en un 88.5% y un 7.7%, respectivamente (solo un 3.8% presentaban toxicidad grave).

DISCUSIÓN

El dolor en pacientes oncológicos es de difícil tratamiento. Es necesario realizar un buen estudio del dolor, es decir, realizar una buena historia clínica y una buena exploración física, que nos permita establecer si el dolor que presenta el paciente es de tipo somático, visceral, neuropático o mixto, donde está localizado, su intensidad, qué tipo de tratamiento analgésico previo ha estado realizando y coadyuvantes que ha tomado. De esta forma podemos valorar si es necesario iniciar el tratamiento con analgésicos convencionales o aumentar de escalón analgésico y pasar a opioides menores o potentes.

En la actualidad, el tema del tratamiento del dolor en pacientes oncológicos requiere de más investigación, ya que de estos pacientes que presentan dolor de moderado a intenso que reciben tratamiento con opioides únicamente el 60% refieren mejoría, mientras que en el 40% restante este tratamiento no es eficaz. Probablemente tenga relación con que exista resistencia a la morfina en algunos pacientes, pero esto es una hipótesis, dado que es un campo poco estudiado, a pesar de que tiene un gran interés clínico.

Hasta el momento tenemos conocimiento, gracias a otros estudios realizados, que esta variabilidad de respuesta y toxicidad observada en pacientes tratados con morfina, puede tener relación con polimorfismos genéticos.

En nuestro estudio, hemos escogido 4 polimorfismos genéticos ya conocidos, relacionados de forma directa o indirecta con la morfina. Por los estudios que se han realizado previamente de éstos, se puede establecer una relación entre los genotipos que presentan con la eficacia y tolerancia a la morfina que presenta cada uno de los pacientes.

Respecto al gen *Oprm-1*, a pesar de que es altamente polimórfico, prácticamente todos los estudios se han centrado en el polimorfismo A118G. Según *Ross JR, Chou WY* y

Klepstad P, para este mismo polimorfismo, muestran evidencias de que pacientes con dolor moderado-intenso por cáncer, que presentan el genotipo GG requieren mayores dosis de morfina para conseguir una disminución del dolor. Con los resultados de nuestro estudio, probablemente se puede confirmar este dato, ya que hemos observado que los pacientes con genotipo AA ó GA para *Oprm-1* tienen mejor respuesta a la morfina, y los pacientes con genotipo GG tienen peor respuesta a ésta, por lo que, presumiblemente, requieran de aumento de dosis.

En los estudios realizados por *Ross JR* respecto a β -arrestina2 y a su *gen arrb2*, se observaron diferencias significativas entre los 2 grupos de tratamiento estudiados (117 controles versus 39 pacientes no respondedores a la morfina, es decir, “switchers”), objetivando que, respecto al polimorfismo C8622T, los pacientes que presentaban el genotipo TT tenían peor respuesta a la morfina. Realmente, observando nuestros resultados, confirmamos que los pacientes con genotipos CC ó TC, presentan mejor eficacia, y los pacientes con genotipo TT peor respuesta. Se pensó que polimorfismos en este gen podían estar relacionados con alteraciones en los receptores μ , ya fuera en cuanto a número o funcionalidad de éstos.

Ross JR, en varios de sus diferentes artículos publicados, también estudia el *gen STAT6*, que a pesar de que es altamente polimórfico (24 polimorfismos objetivados, aproximadamente), la mayoría de sus polimorfismos se encuentran en intrones y regiones no codificantes. Existen muy pocos estudios respecto a este gen pero se observó que variaciones en él, concretamente por el polimorfismo C9065T, podrían provocar una menor regulación del gen *Oprm-1* y por lo tanto una disminución en la expresión de los receptores. También existen otros trabajos en los que se observa la reacción contraria, es decir, un aumento en la expresión del receptor μ -opioide al activar la transcripción de dicho receptor. En nuestro trabajo no hemos observado resultados significativos respecto a eficacia, pero si hemos obtenido significación estadística

respecto a toxicidad, mostrando mejor tolerancia los pacientes con genotipos AA ó GA para STAT6.

Y en cuanto al último polimorfismo estudiado por nosotros, el de Val158Met para el gen que codifica para COMT, se conoce hasta el momento, que este polimorfismo provoca cambios importantes en la actividad de COMT. En los trabajos de *Rakvag TT* y *Klepstad P*, se confirman estos cambios. Los pacientes con el genotipo Val/Val (GG) tienen peor respuesta a la morfina, ya que presentan una percepción mayor al dolor, y requieren de aumento de dosis. Estos mismos resultados los hemos objetivado en nuestro estudio, ya que los pacientes con genotipo AA ó GA tienen mejor respuesta.

Por tanto, con el estudio que hemos realizado, a pesar de tener un tamaño muestral pequeño, podemos observar que existe alguna tendencia o asociación entre los 4 polimorfismos genéticos que hemos escogido (β -arrestina2, COMT, STAT6 y Oprm1) y eficacia o toxicidad al tratamiento con morfina, ya que en función de los genotipos que cada paciente presente de cada polimorfismo, podríamos saber si va a responder mejor o peor al tratamiento con sulfato de morfina y si lo va a tolerar mejor o peor de lo esperado, y así administrar con seguridad este tratamiento o valorar otras alternativas.

Con nuestro estudio, hemos podido confirmar y corroborar los datos que actualmente ya están publicados en la bibliografía existente hasta el momento, respecto a la relación entre dichos polimorfismos y la eficacia a la morfina; además de que hemos obtenido otros resultados diferentes de gran interés, como son los objetivados respecto a la relación entre los polimorfismos y la toxicidad, especialmente la referente a STAT6, ya que han resultado estadísticamente significativos.

Es cierto, por lo tanto, que el estudio de factores de predicción de respuesta y/o resistencia a los tratamientos analgésicos en nuestros enfermos, es necesario, ya que de esta forma se podría evitar utilizar tratamientos innecesarios y así poder optimizar el

tratamiento analgésico en ellos, evitando toxicidades asociadas a los fármacos administrados, y optimizando los recursos sanitarios disponibles.

Por todo lo anterior, es de esperar que si aumentamos el tamaño muestral, podamos obtener resultados prometedores, y poder continuar a posteriori con estudios similares con otros fármacos más novedosos, como opioides de última generación que probablemente presentan mejor tolerancia, efectividad, y facilidad de cumplimiento, con intención de mejorar, en todo momento, la calidad de vida del paciente.

CONCLUSIONES

Podemos concluir que:

1. Existe una posible asociación de los genotipos CC/TC para el gen β -arrestina2 y los genotipos AA/GA para los genes COMT y Oprm1 con una mejor respuesta y menor toxicidad a la morfina.
2. Se ha confirmado que hay una asociación de los genotipos AA/GA para el gen STAT6 con una menor toxicidad a la morfina, es decir, mejor tolerancia a ella, ya que hemos obtenido resultados estadísticamente significativos (aunque sin ninguna relación con respecto a la respuesta a la morfina).

Posiblemente el tamaño de nuestra muestra dificulta la obtención de datos estadísticamente significativos y por ello el objetivo es aumentarla para demostrar que se puede seleccionar el tratamiento en base al genotipado de estos polimorfismos.

TABLAS Y FIGURAS

FIGURAS:

Figura 1: Escala Visual Analógica (EVA)



Figura 2: Esquema de tratamiento en el paciente oncológico con dolor, donde se observan los tratamientos más adecuados a cada tipo de dolor. Si con los tratamientos de inicio no hay eficacia, siempre se ha de cambiar a un opioide potente (morfina).

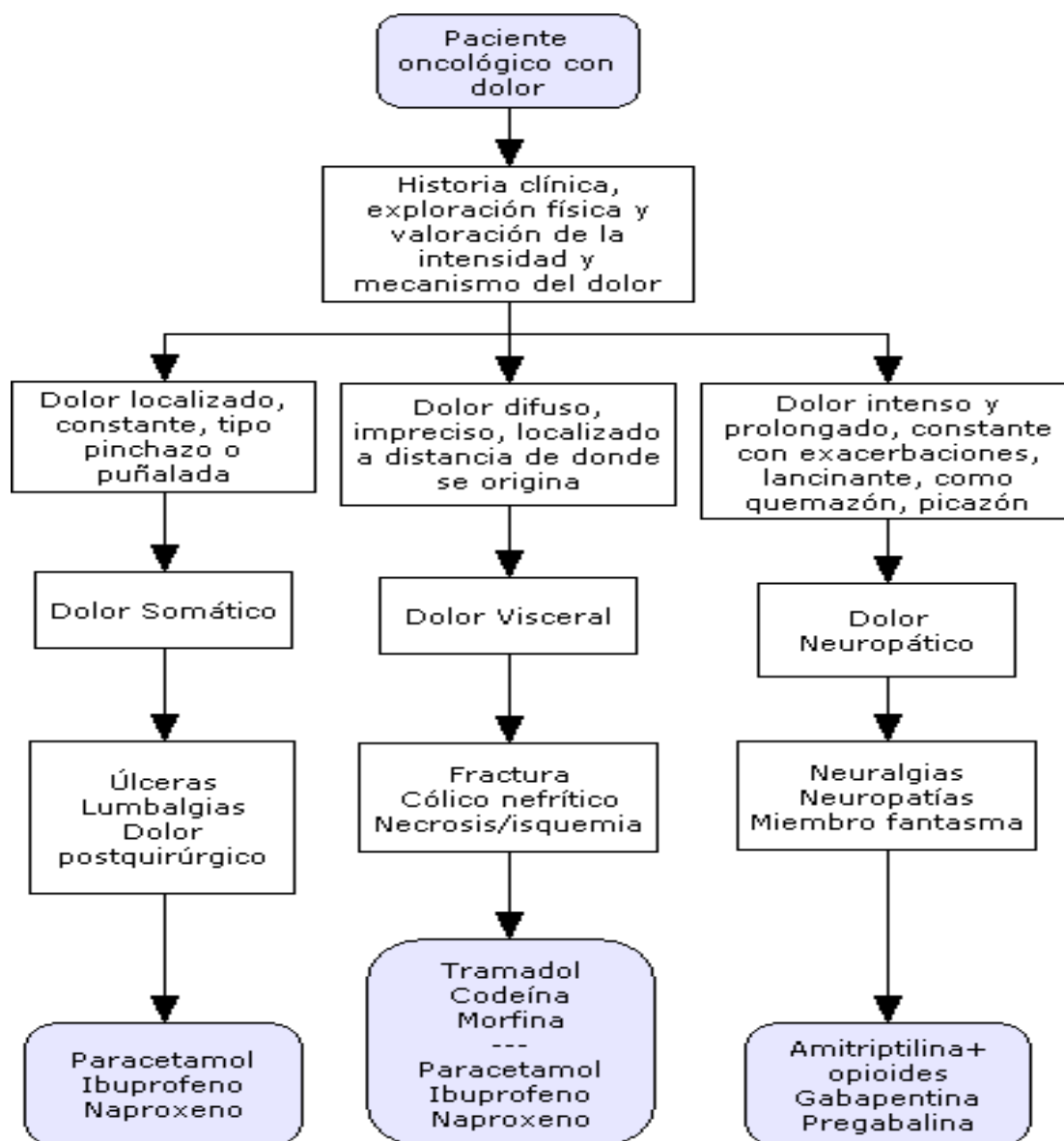


Figura 3: Figura que muestra el probable mecanismo de acción de la morfina al unirse al receptor opioide en la neurona pre-sináptica.

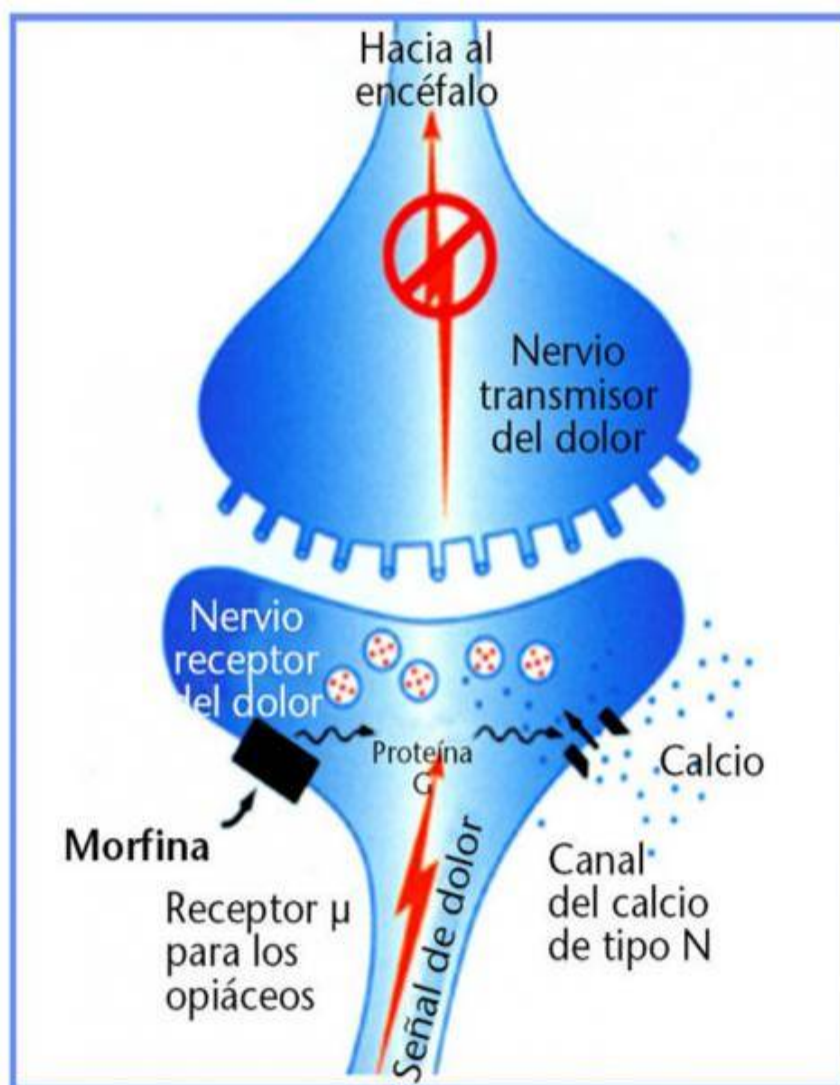
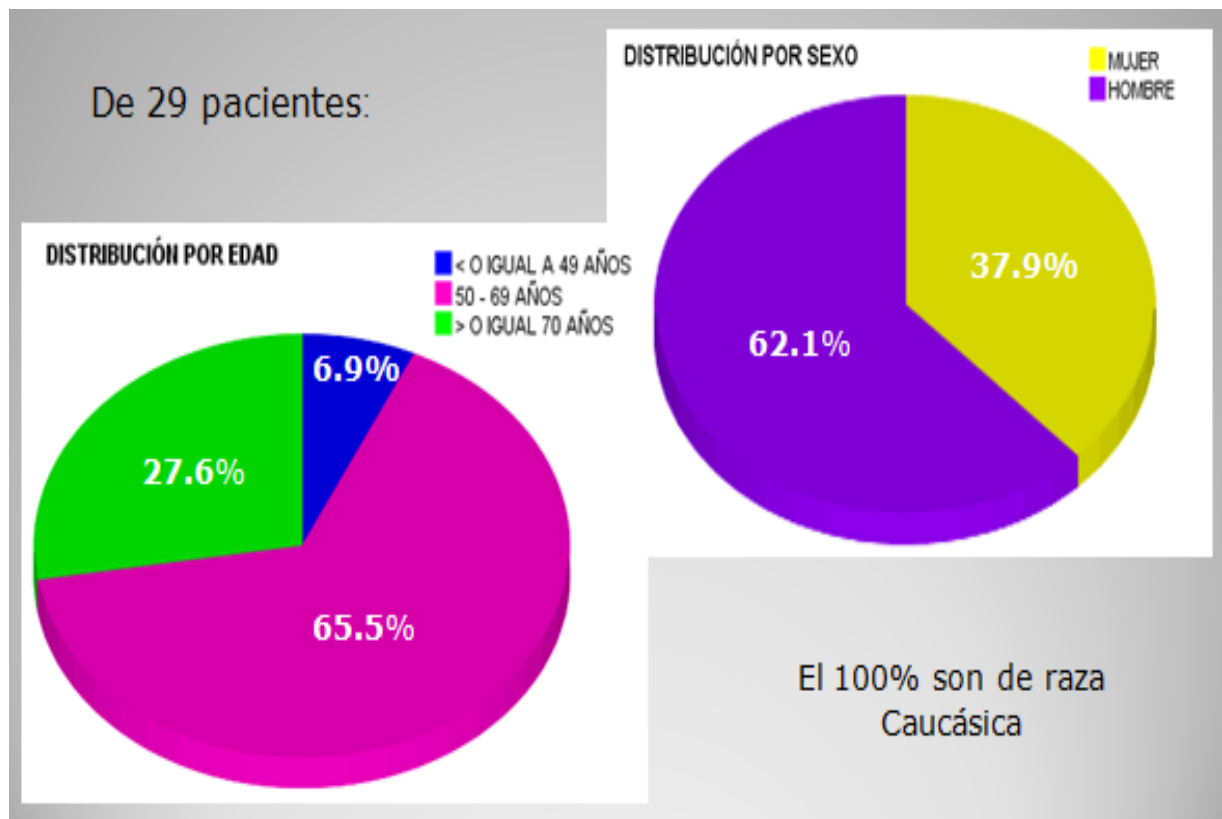


Figura 4: Gráfico en el que observamos la distribución por edad, sexo y raza de los 29 pacientes incluidos en el estudio.



TABLAS

Tabla 1: Escala terapéutica en el dolor oncológico – Escalones de la OMS

<u>Dolor leve - 1^{er}</u> <u>Escalón OMS</u> (EVA 1 - 4)	<u>Dolor moderado - 2^o</u> <u>Escalón OMS</u> (EVA 5 – 7)	<u>Dolor Intenso - 3^{er}</u> <u>Escalón OMS</u> (EVA 8 – 10)
Analgésicos no opioides (AINEs, Paracetamol)	Opioides débiles (tramadol, codeína) y si no son efectivos, opiodes potentes	Opioides potentes (morfina, fentanilo, oxycodona, buprenorfina, hidromorfona)
	Analgésicos no opioides: Paracetamol, AINEs	Analgésicos no opioides
+/- Coadyuvantes	+/- Coadyuvantes	+/- Coadyuvantes

Tabla 2: Caracterización del ADN genómico de los 100 controles sanos versus los 29 pacientes incluidos en el estudio. Comparativa de frecuencias.

<i>B-ARRESTINA2</i>			<i>COMT</i>		
Genotipo	% Controles	% Pacientes	Genotipo	% Controles	% Pacientes
CC	13%	16.7%	GG	30%	33.3%
TC	39%	43.3%	AG	40%	43.3%
TT	48%	40%	AA	30%	23.3%

<i>OPRM1</i>			<i>STAT6</i>		
Genotipo	% Controles	% Pacientes	Genotipo	% Controles	% Pacientes
GG	3%	10%	GG	16%	13.3%
AG	23%	30%	AG	39%	46.7%
AA	74%	60%	AA	44%	40%

Tabla 3: Tabla de contingencia que muestra la relación entre eficacia (respuesta o no respuesta) y toxicidad (leve, grave, o no toxicidad) ($p = 0.055$).

Tabla contingencia RESPUESTA - TOXICIDAD						
			EF_SEC1			Total
			Leve	Grave	No	
R_NR	RESPUESTA	Recuento	9	0	3	12
		% dentro de R_NR	75,0%	,0%	25,0%	100,0%
		% dentro de EF_SEC1	37,5%	,0%	100,0%	41,4%
		% del total	31,0%	,0%	10,3%	41,4%
	NO RESPUESTA	Recuento	15	2	0	17
		% dentro de R_NR	88,2%	11,8%	,0%	100,0%
		% dentro de EF_SEC1	62,5%	100,0%	,0%	58,6%
		% del total	51,7%	6,9%	,0%	58,6%
Total		Recuento	24	2	3	29
		% dentro de R_NR	82,8%	6,9%	10,3%	100,0%
		% dentro de EF_SEC1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% del total	82,8%	6,9%	10,3%	100,0%

R_NR: Respuesta versus No Respuesta

EF_SEC1: Efectos secundarios (toxicidad leve, toxicidad grave, no toxicidad)

Tabla 4: Tabla de contingencia que muestra la relación entre eficacia (respuesta o no respuesta) y el polimorfismo genético de β -arrestina2 ($p = 0.13$).

Tabla contingencia RESPUESTA – β ARRESTINA2					
			BARREST_RECO		Total
			CC y TC	TT	
R_NR	RESPUESTA	Recuento	9	3	12
		% dentro de R_NR	75,0%	25,0%	100,0%
		% dentro de BARREST_RECO	52,9%	25,0%	41,4%
		% del total	31,0%	10,3%	41,4%
	NO RESPUESTA	Recuento	8	9	17
		% dentro de R_NR	47,1%	52,9%	100,0%
		% dentro de BARREST_RECO	47,1%	75,0%	58,6%
		% del total	27,6%	31,0%	58,6%
Total			17	12	29
		% dentro de R_NR	58,6%	41,4%	100,0%
		% dentro de BARREST_RECO	100,0%	100,0%	100,0%
		% del total	58,6%	41,4%	100,0%

R_NR: Respuesta versus No Respuesta

BARREST_RECO: Polimorfismo de β -arrestina2

CC, TC, TT: Genotipos de β -arrestina2

Tabla 5: Tabla de contingencia que muestra la relación entre eficacia (respuesta o no respuesta) y el polimorfismo genético de COMT ($p = 0.13$).

Tabla contingencia RESPUESTA - COMT					
			COMT_RECO		Total
			AA y GA	GG	
R_NR	RESPUESTA	Recuento	10	2	12
		% dentro de R_NR	83,3%	16,7%	100,0%
		% dentro de COMT_RECO	52,6%	20,0%	41,4%
		% del total	34,5%	6,9%	41,4%
	NO RESPUESTA	Recuento	9	8	17
		% dentro de R_NR	52,9%	47,1%	100,0%
		% dentro de COMT_RECO	47,4%	80,0%	58,6%
		% del total	31,0%	27,6%	58,6%
Total		Recuento	19	10	29
		% dentro de R_NR	65,5%	34,5%	100,0%
		% dentro de COMT_RECO	100,0%	100,0%	100,0%
		% del total	65,5%	34,5%	100,0%

R_NR: Respuesta versus No Respuesta

COMT_RECO: Polimorfismo de COMT

AA, GA, GG: Genotipos de COMT

Tabla 6: Tabla de contingencia que muestra la relación entre toxicidad (leve, grave o no toxicidad) y el polimorfismo genético de COMT ($p = 0.39$).

Tabla contingencia TOXICIDAD - COMT					
			COMT_RECO		Total
			AA y GA	GG	
EF_SEC1	Leve	Recuento	15	9	24
		% dentro de EF_SEC1	62,5%	37,5%	100,0%
		% dentro de COMT_RECO	<u>78,9%</u>	90,0%	82,8%
		% del total	51,7%	31,0%	82,8%
	Grave	Recuento	1	1	2
		% dentro de EF_SEC1	50,0%	50,0%	100,0%
		% dentro de COMT_RECO	<u>5,3%</u>	10,0%	6,9%
		% del total	3,4%	3,4%	6,9%
	No	Recuento	3	0	3
		% dentro de EF_SEC1	<u>100,0%</u>	,0%	100,0%
		% dentro de COMT_RECO	<u>15,8%</u>	,0%	10,3%
		% del total	10,3%	,0%	10,3%
Total	Recuento	19	10	29	
	% dentro de EF_SEC1	65,5%	34,5%	100,0%	
	% dentro de COMT_RECO	100,0%	100,0%	100,0%	
	% del total	65,5%	34,5%	100,0%	

EF_SEC1: Efectos secundarios (toxicidad leve, toxicidad grave, no toxicidad)

COMT_RECO: Polimorfismo de COMT

AA, GA, GG: Genotipos de COMT

Tabla 7: Tabla de contingencia que muestra la relación entre eficacia (respuesta o no respuesta) y el polimorfismo genético de Oprm1 ($p = 0.25$).

Tabla contingencia RESPUESTA – OPRM1					
			OPRM1_RECO2		Total
			AA y GA	GG	
R_NR	RESPUESTA	Recuento	12	0	12
		% dentro de R_NR	100,0%	,0%	100,0%
		% dentro de OPRM1_RECO2	46,2%	,0%	41,4%
		% del total	41,4%	,0%	41,4%
NO RESPUESTA	NO RESPUESTA	Recuento	14	3	17
		% dentro de R_NR	82,4%	17,6%	100,0%
		% dentro de OPRM1_RECO2	53,8%	100,0%	58,6%
		% del total	48,3%	10,3%	58,6%
Total		Recuento	26	3	29
		% dentro de R_NR	89,7%	10,3%	100,0%
		% dentro de OPRM1_RECO2	100,0%	100,0%	100,0%
		% del total	89,7%	10,3%	100,0%

R_NR: Respuesta versus No Respuesta

OPRM1_RECO2: Polimorfismo de Oprm1

AA, GA, GG: Genotipos de Oprm1

Tabla 8: Tabla de contingencia que muestra la relación entre toxicidad (leve, grave o no toxicidad) y el polimorfismo genético de Oprm1 ($p = 0.15$).

Tabla contingencia TOXICIDAD – OPRM1					
			OPRM1_RECO2		Total
			AA y GA	GG	
EF_SEC1	Leve	Recuento	22	2	24
		% dentro de EF_SEC1	91,7%	8,3%	100,0%
		% dentro de OPRM1_RECO2	84,6%	<u>66,7%</u>	82,8%
		% del total	75,9%	6,9%	82,8%
	Grave	Recuento	1	1	2
		% dentro de EF_SEC1	50,0%	50,0%	100,0%
		% dentro de OPRM1_RECO2	<u>3,8%</u>	<u>33,3%</u>	6,9%
		% del total	3,4%	3,4%	6,9%
	No	Recuento	3	0	3
		% dentro de EF_SEC1	<u>100,0%</u>	,0%	100,0%
		% dentro de OPRM1_RECO2	<u>11,5%</u>	<u>,0%</u>	10,3%
		% del total	10,3%	,0%	10,3%
Total	Recuento		26	3	29
	% dentro de EF_SEC1		89,7%	10,3%	100,0%
	% dentro de OPRM1_RECO2		100,0%	100,0%	100,0%
	% del total		89,7%	10,3%	100,0%

EF_SEC1: Efectos secundarios (toxicidad leve, toxicidad grave, no toxicidad)

OPRM1_RECO2: Polimorfismo de Oprm1

AA, GA, GG: Genotipos de Oprm1

Tabla 9: Tabla de contingencia que muestra la relación entre toxicidad (leve, grave o no toxicidad) y el polimorfismo genético de STAT6 ($p = 0.048$).

Tabla contingencia TOXICIDAD – STAT6					
			STAT6_RECO2		Total
			AA y GA	GG	
EF_SEC1	Leve	Recuento	23	1	24
		% dentro de EF_SEC1	95,8%	4,2%	100,0%
		% dentro de STAT6_RECO2	88,5%	33,3%	82,8%
		% del total	79,3%	3,4%	82,8%
	Grave	Recuento	1	1	2
		% dentro de EF_SEC1	50,0%	50,0%	100,0%
		% dentro de STAT6_RECO2	3,8%	33,3%	6,9%
		% del total	3,4%	3,4%	6,9%
	No	Recuento	2	1	3
		% dentro de EF_SEC1	66,7%	33,3%	100,0%
		% dentro de STAT6_RECO2	7,7%	33,3%	10,3%
		% del total	6,9%	3,4%	10,3%
Total	Recuento	26	3	29	
	% dentro de EF_SEC1	89,7%	10,3%	100,0%	
	% dentro de STAT6_RECO2	100,0%	100,0%	100,0%	
	% del total	89,7%	10,3%	100,0%	

EF_SEC1: Efectos secundarios (toxicidad leve, toxicidad grave, no toxicidad)

STAT6_RECO2: Polimorfismo de STAT6

AA, GA, GG: Genotipos de STAT6

REFERENCIAS

1. Li Y, Liu X, Liu C, Kang J, Yang J, Pei G, Wu C. "Improvement of Morphine-Mediated Analgesia by Inhibition of beta-Arrestin 2 Expression in Mice Periaqueductal Gray Matter". *International Journal of Molecular Sciences* 10 (3): 954–63. doi:10.3390/ijms10030954. PMC 2672012. PMID 19399231 (Marzo 2009).
2. Zheng H, Loh HH, Law PY. "Beta-arrestin-dependent mu-opioid receptor-activated extracellular signal-regulated kinases (ERKs) Translocate to Nucleus in Contrast to G protein-dependent ERK activation". *Molecular Pharmacology* 73 (1): 178–90. doi:10.1124/mol.107.039842. PMC 2253657. PMID 17947509 (Enero 2008).
3. Ma L, Pei G. "Beta-arrestin signaling and regulation of transcription". *Journal of Cell Science* 120 (Pt 2): 213–8. doi:10.1242/jcs.03338. PMID 17215450 (Enero 2007).
4. He L, et al. "Toll-like receptor 9 is required for opioid-induced microglia apoptosis". *PLoS One*, PMID 21559519 (Abril, 2011).
5. Song C, et al. "Protein kinase C ζ mediates micro-opioid receptor-induced cross-desensitization of chemokine receptor CCR5". *J Biol Chem*, PMID 21454526 (Jun 2011).
6. Yekkirala AS, et al. "N-naphthoyl-beta-naltrexamine (NNTA), a highly selective and potent activator of μ /kappa-opioid heteromers". *Proc Natl Acad Sci U S A*, PMID 21385944 (Marzo 2011)

7. Kögel B, et al. "The antinociceptive and antihyperalgesic effect of tapentadol is partially retained in OPRM1 (μ -opioid receptor) knockout mice". *Neurosci Lett*, PMID 21232580 (Marzo 2011).
8. Feng B, et al. "Protein kinase C-mediated phosphorylation of the μ -opioid receptor and its effects on receptor signaling". *Mol Pharmacol*, PMID 21212139 (Abril, 2011)
9. P. Armero, C. Muriel, J. Santos, F. J. Sánchez-Montero, R. E. Rodríguez y R. González-Sarmiento, "Bases genéticas del dolor" *Revista de la Sociedad Española del Dolor* v.11 n.7 Narón (La Coruña) (Octubre-Noviembre 2004).
10. Mc Donald PH, Chow CW, Miller WE, Laporte SA, Field ME, Lin FT, Davis RJ, Lefkowitz RJ. "Beta-arrestin 2: a receptor-regulated MAPK scaffold for the activation of JNK3". *Science*; 290(5496):1574-7 (Noviembre 2000)
11. Ross JR; Riley J. "Commentary: Controversies in SIGN guidance on pain control in patients with cancer". *BRIT MED J*. 337 (Noviembre 2008)
12. Ross, JR; Rutter, D; Welsh, K; Joel, SP; Goller, K; Wells, AU; Du Bois, R & Riley J. "Clinical response to morphine in cancer patients and genetic variation in candidate genes". *The Pharmacogenomics Journal* 5, 324-336 (Octubre 2005).
13. Ross, JR; Riley, J; Quigley, C & Welsh K. I. "Clinical pharmacology and pharmacotherapy of opioid switching in cancer patients". *The Oncologist* 11, 765-773 (Julio 2006).
14. Ross JR; Riley J; Taegetmeyer AB; Sato H; Gretton S; du Bois RM; Welsh KI. "Genetic variation and response to morphine in cancer patients: catechol-O-methyltransferase and multidrug resistance-1 gene polymorphisms are associated with central side effects". *Cancer*. 112:1390-1403 (Marzo 2008).

15. Klepstad, P; Rakvag, TT; Kaasa, S; Holthe, M; Dale, O; Borchgrevink, PC; Baar, C; Vikan, T; Krokan, HE & Skorpen, F. "The 118 A<G polymorphism in the human μ -opioid receptor gene may increase morphine requirements in patients with pain caused by malignant disease". *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 48: 1232-1239 (Noviembre 2004).
16. Chou, WY; Wang, CH; Liu, PH; Liu, CC; Tseng, CC & Jawan, B. "Human opioid receptor A118G polymorphism affects intravenous patient-controlled analgesia morphine consumption after total abdominal hysterectomy". *Anesthesiology*, 105 (2): 334-337 (2006).
17. Rakvåg TT, Ross JR, Sato H, Skorpen F, Kaasa S, Klepstad P. "Genetic variation in the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene and morphine requirements in cancer patients with pain". *Mol Pain*. 18;4:64 (Diciembre 2008).
18. Reyes-Gibby CC, Shete S, Rakvåg T, Bhat SV, Skorpen F, Bruera E, Kaasa S, Klepstad P. "Exploring joint effects of genes and the clinical efficacy of morphine for cancer pain: OPRM1 and COMT gene". *Pain*; 130(1-2):25-30 (Julio 2007).
19. Rakvag, TT; Klepstad, P; Baar, C; Kvam, T-M; Dale, O; Kaasa, S; Krokan, HE & Korpen, F. "The Val158Met polymorphism of the human catechol-o-methyltransferase (COMT) gene may influence morphine requirements in cancer pain patients". *Pain*, 116 73-78 (Julio 2005).
20. Bradaña, A; Berton, F; Ferrari, S & Lüscher, C. " β -arrestin2, interacting with phosphodiesterase 4, regulates synaptic release probability and presynaptic inhibition by opioids". *PNAS*, vol 102, nº8: 3034-3039 (Febrero 2005).

21. Lotsch, J; Skarke, C; Grosch, S; Darimont, J; Schmidt, H & Geisslinger, G.
“The polymorphism A118G of the human μ -opioid receptor gene decreases the pupil constrictory effect of morphine-6-glucuronide but not that of morphine”.
Pharmacogenetics, 12 (1):1-2 (2002).
22. Lotsch, J; Skarke, C; Liefhold, & J Geisslinger G. “Genetic predictors of the clinical response to opioid analgesics: clinical utility and future perspectives”.
Clin Pharmacokinet; 43 (14): 983-1013 (2004).
23. Lötsch J, Zimmermann M, Darimont J, Marx C, Dudziak R, Skarke C, Geisslinger G. “Does the A118G polymorphism at the mu-opioid receptor gene protect against morphine-6-glucuronide toxicity?”. Anesthesiology; 97(4):814-9 (October 2002).